食安発０９１０第２号
平成２４年９月１０日

各　検疫所長　殿

医薬食品局食品安全部長
（公　印　省　略）

放射線照射された食品の検知法について

標記については、平成 19 年 7 月 6 日付け食安発第 0706001 号（最終改正：平成 22 年３月 30 日付け食安発 0330 第３号）により通知し検知法を示しているところです。
このたび、試験法として電子スピン共鳴（ＥＳＲ）法を追加するなど、別添のとおり改めることとしましたので、御了知の上、適切な運用を図られるようお願いします。

別添

放射線照射された食品の検知法

Ⅰ．アルキルシクロブタノン法

１．対象食品

脂肪を抽出可能な食品（牛肉、豚肉、鶏肉、鮭、カマンベールチーズ等）

２．分析対象

放射線照射により脂肪組織中に生成するドデシルシクロブタノン(DCB)及びテトラデシルシクロブタノン(TCB)

３．試験

３．１　アルキルシクロブタノン法の性能評価

アルキルシクロブタノン法により試験を行う際には、試験に先立って以下の方法に従って性能評価を実施すること。

性能評価方法

試験の対象とする食品から、脂肪を抽出する。抽出した脂肪を陰性試料とする。また抽出した脂肪に、DCB 及び TCB をそれぞれ 0.05 µg/g 添加し、陽性試料とする。

陰性試料について評価の対象とする方法に従って操作し、以下に示す判定項目に従って判定する。これを１日２併行２日間くり返し、陰性判定結果とする。陽性試料について評価の対象とする方法に従って操作し、以下に示す判定項目に従って判定する。これを１日２併行８日間、あるいは１日４併行４日間くり返し、陽性判定結果とする。

４個の陰性判定結果全てが陰性であり、１６個の陽性判定結果全てが陽性であるとき、評価対象とした試験方法は妥当と考えられる。

判定項目

１．標準溶液と同じ保持時間に、m/z 98 及び m/z 112 に S/N 比 3 以上のピークを認める。

２．m/z 98 及び m/z 112 で観測されるピーク面積の比は、m/z 98 において近似した面積を与える検量線用標準溶液ピークから得られる m/z 98 及び m/z 112 のピーク面積比の±20%以内である。

３．保持時間付近で m/z 95 から m/z 115 の範囲でスキャン測定を行うとき、m/z 98 及び m/z 112 が主要イオンである。

４．上記 1 から 3 の項目を満たした場合の定量値が、検量線用標準溶液の S/N 比 3 から求めた濃度以上である。

以上の項目全てを満足するときに陽性と判定し、１つでも満足しないときに陰性と

判定する。

３．２　試験方法

以下に例示する方法は、欧州標準規格法(EN1785)に準拠しており、国内で妥当性を検証されているが、方法を変更して試験することも可能である。

３．２．１　装置、器具

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC-MS）

ソックスレー抽出装置

円筒ろ紙[注1)]：使用前にヘキサンで洗浄し、乾燥させてから使用する。

クロマトグラフ管：内径 20 mm、長さ 30 cm、PTFE 栓

減圧濃縮機：260 mbar 程度の真空度に調整可能なロータリーエバポレーター等

脱脂綿：使用前にヘキサンで洗浄し、乾燥させてから使用する。

注 1）円筒ろ紙の一例としては、内径 45 mm、長さ 123 mm 等がある。内径の小さい円筒ろ紙では、ろ紙内での試料と無水硫酸ナトリウムの混合が困難になる。

３．２．２　試薬、試液

DCB 標準品：純度 99%以上

TCB 標準品：純度 99%以上

内部標準物質：2-シクロヘキシルシクロヘキサノン　純度 95%以上

内部標準溶液：2-シクロヘキシルシクロヘキサノンを *n*-ヘキサンに溶解し、0.5 µg/mL とする。

検量線用標準溶液:DCB、TCB、及び 2-シクロヘキシルシクロヘキサノンについて各々の *n*-ヘキサン溶液を調製し、それらを混合した後、0.5 µg/mL の 2-シクロヘキシルシクロヘキサノンを含む 0.0125 µg/mL から 0.2 µg/mL の DCB 及び TCB 溶液を数点調製する。この濃度範囲を超える分析対象化合物が検出された場合は適宜、濃度範囲を変更する。

n-ヘキサン

無水硫酸ナトリウム

ジエチルエーテル

合成ケイ酸マグネシウム[注2)]：550℃で 5 時間活性化した後、重量の 5 分の 1 の水を加えて一晩放置し不活性化させる。不活性化後、一週間以内に使用する。

注 2）合成ケイ酸マグネシウムとしてフロリジル PR が市販されている。製造会社及びロットを変更した場合は分画試験を行い、分析対象化合物の回収率を確認する。

３．２．３　試験溶液の調製

（１）抽出

検体中の脂肪を多く含む部分を採取し、細切均一化した後、その 20 g を試料とする。

試料と２倍量の無水硫酸ナトリウムを円筒ろ紙に入れて良く混合する[注3)]。ソックスレー抽出装置を用いて、*n*-ヘキサン約 200 mL で６時間還流抽出する[注4)]。抽出液[注5)]に *n*-ヘキサンを加えて正確に 100 mL とし、無水硫酸ナトリウム 10 g を加えて一晩放置する。

（２）脂肪重量測定

脱水後の抽出液５ mL をガラスバイアルに採り、窒素ガスを吹き付けて溶媒を完全に除き、残留した脂肪の重量を測定する[注6)]。

（３）精製

内径 20 mm、長さ 30 cm のクロマトグラフ管に、無水硫酸ナトリウム３ g、不活性化処理した合成ケイ酸マグネシウム 36 g、及び無水硫酸ナトリウム３ g を *n*-ヘキサンで順次湿式充填し、カラムの上端に少量の *n*-ヘキサンが残る程度まで *n*-ヘキサンを流出させる。このカラムに、１）抽出で得られた抽出液のうち、脂肪 200 mg に相当する量を注入する。注入する液量が５ mL を超える場合は、濃縮して５ mL 以下とする。*n*-ヘキサン 150 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、ジエチルエーテル及び *n*-ヘキサン(1:99)混液 150 mL を注入し、全溶出液を減圧濃縮器により 40℃、約 260 mbar で 5～10 mL に濃縮する[注7)]。濃縮液を少量のヘキサンで洗い込みながら濃縮用試験管に移し、40℃以下で窒素ガスを吹き付けて溶媒を完全に除き、内部標準溶液 200 µL に溶かしたものを試験溶液とする[注8)]。

注 3) 必要ならば無水硫酸ナトリウム量は増減させて良い。脂肪含量が低い食品では、試料量と無水硫酸ナトリウム量を増加しても良いが、試料由来のマトリックスの影響に注意すること。また、試料と無水硫酸ナトリウムを混合後、30 分程度放置すると試料が良く脱水される。

注 4) 200 mL 程度のヘキサンを使用し、約１時間で４回以上抽出されるようにソックスレー抽出装置を調整する。

注 5) 抽出液量が多い場合は、減圧濃縮器により濃縮（40℃、約 260 mbar）する。ソックスレー抽出管に溶媒が移った状態でフラスコを取り出すと、抽出液を濃縮する手間を省くことができる。

注 6) 室温あるいは 40℃で窒素ガスを吹き付け、重量が一定になったことを確認する。

注 7) 過度の濃縮や、乾固は回収率が低下するので注意する。

注 8)　窒素ガス吹き付けによる濃縮作業では、溶液の表面が動いているのがようやく見える程度に窒素ガスを調節する。乾固後は放置せず、直ちに内部標準溶液に溶解する。

３．２．４　検量線用標準溶液からの相対感度の算出

各検量線用標準溶液１ µL を GC-MS に注入し、分析対象化合物のピーク面積を求める。各検量線用標準溶液における内部標準物質に対する DCB 及び TCB の相対感度（F）を式（１）により求め、それらの平均を平均相対感度（F_{av}）とする。

$$F = \frac{A_{cy}}{A_{is} \times \rho_{cy}} \qquad （１）$$

F：相対感度
A_{cy}：DCB 及び TCB の面積値（m/z 98）
A_{is}：2-シクロヘキシルシクロヘキサノンの面積値（m/z 98）
ρ_{cy}：DCB 及び TCB の濃度（μg/mL）

【GC 条件】
カラム：DB-5ms カラム（長さ 30 m×内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μm）
ガードカラム：アジレント不活性化キャピラリーカラム（長さ 2～3 m×内径 0.25 mm）
昇温条件：60℃(1 min)→8℃/min→300℃(5 min)、 total=36 min（平均線速度 36.6cm/min）
流速：1 mL/min（ヘリウム）
インサート：シングルテーパライナー、石英ウール入り
注入量：1 μL（スプリットレス注入）
注入口温度：250℃

【MS 条件】
SIM 測定（定量イオン m/z 98、確認イオン m/z 112）、Dwell time 150m 秒（3.12 サイクル/秒）
スキャン測定（スキャン範囲 m/z 95～115、スキャンスピード 1.87 スキャン/秒）
イオン化電圧：70 eV（EI^+）
Transfer line 温度：280℃、イオン源温度：230℃、四重極温度：150℃

３．２．５　定量

試験溶液１ μL を GC/MS に注入し[注 9)]、３．２．４で求めた F_{av} を使用し、試験溶液に含まれる DCB 及び TCB の含量を式（２）により求める。

$$\rho_{cy/s} = \frac{A_{cy/s}}{A_{is/s} \times F_{av} \times 5} \qquad (2)$$

$\rho_{cy/s}$：試験溶液に含まれる DCB 及び TCB の含量（μg/200 μL）
$A_{cy/s}$：試験溶液の DCB 及び TCB の面積値（m/z 98）
$A_{is/s}$：試験溶液の 2-シクロヘキシルシクロヘキサノンの面積値（m/z 98）
F_{av}：(1)式により算出した平均相対感度

対象食品の脂肪中の DCB 及び TCB 濃度（μg/g）は式（３）により求める。

$$W_{cy} = \frac{\rho_{cy/s}}{m_0} \times 1000 \qquad (3)$$

W_{cy}：脂肪中の DCB 及び TCB の濃度（μg/g）
$\rho_{cy/s}$：試験溶液に含まれる DCB 及び TCB の含量（μg/200 μL）
m_0：フロリジルカラムに負荷した脂肪重量（mg）

注9）試験溶液中の内部標準物質の面積値が、検量線用標準溶液中の内部標準物質の面積値の70%以上であることを確認する。

４．判定

妥当性を確認された試験法に従って得られたDCB及びTCBのいずれかのピークについて、以下の判定項目を全て満たす場合に、検体が放射線照射されたと判定する。

（１）標準溶液と同じ保持時間に、m/z 98及びm/z 112にS/N比3以上のピークを認める[注10)]。

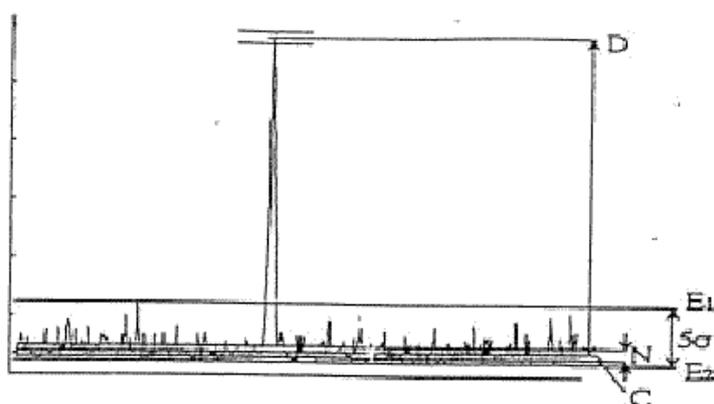
（２）m/z 98及びm/z 112で観測されるピーク面積の比[注11)]は、m/z 98において近似した面積を与える検量線用標準溶液ピークから得られるm/z 98及びm/z 112のピーク面積比の±20%以内である。

（３）保持時間付近でm/z 95からm/z 115の範囲でスキャン測定を行うとき、m/z 98及びm/z 112が主要イオンである[注12)]。

（４）上記1から3の項目を満たした場合の定量値が、検量線用標準溶液のS/N比3から求めた濃度以上である。

注10）S/N=10程度となる濃度の検量線用標準溶液 1 μLを注入して測定し、S/N=3となる最小検出量（ng）を求める。いずれかの試験溶液を2回以上起爆注入した後に測定する。

注11）m/z 98に対するm/z 112の相対イオン強度（検量線用標準溶液では通常、20%から25%程度）。

注12）２つのイオンの合計強度が50%以上であることを目安とする。

＜S/N比の求め方＞経験的にノイズ範囲の最大ノイズ（E1）と最小ノイズ（E2）との幅は、およそ標準偏差の5倍となるため、その幅の2/5をノイズ幅（N）とする。一方、ノイズの中央値を（C）をベースラインとし、ベースラインのノイズを元にピークトップ（D）を決めて、この幅をピーク高さ（S）とする（下図参照）。なお、ノイズ測定範囲は、対象ピーク近傍の範囲（少なくとも10程度のノイズポイント）を目安にする。

Ⅱ．熱ルミネッセンス（TL）試験法

１．対象食品

ケイ酸塩鉱物が分離可能な食品

農産物（香辛料、野菜類、果実類及び茶等）及び水産物（あさり、えび及びしゃこ）注1)

注1）厚生労働科学研究事業において、黒胡椒、ウコン、オレガノ、パプリカ、赤唐辛子、フェネグリーク、クミン、セロリシード、オールスパイス、黒胡麻、コリアンダー、生姜、カシア、パセリシード、ローレル、わさび、シナモン、ニンニク、ガジュツ、白胡椒、アニスシード、クローブ、スターアニス、セージ、タイム、タラゴン、フェンネル、ミント、マジョラム、えんどう豆*、しいたけ、だいこん、ケール*、マカ*、大麦若葉*、白菜*、野沢菜*、小松菜*、シソ*、にら*、キャベツ*、ごぼう*、たまねぎ、ねぎ、ほうれんそう、レタス+、れんこん+、りんご*、いちご*、ウーロン茶、プーアール茶、麦茶、ドクダミ茶、あさり、えび及びしゃこ（＊乾燥のみ、＋生鮮のみ）から試験に必要な量の鉱物が得られることが確認されている。ただし、検体の状態によっては本検知法が適用できない場合もある。

２．分析対象

放射線照射によりケイ酸塩鉱物結晶中に蓄えられたエネルギーが加熱された時に生じる発光（熱ルミネッセンス：TL）

３．試験実施のための管理事項

（１）TL強度は光への曝露及び高温により減少するので、光にさらされていない部分から検体を採取し、検体採取から第二発光測定までの間、検体及び試料が強い光に曝露されること及び高温の状態になることを極力避ける。

（２）検体から採取される鉱物は微量であるので、各段階で重量を精密に測定し、確実に記録する。

（３）TL試験法により試験を行う際には、試験に先立って、5日以上に亘って10回以上のブランク測定を行い、第一発光強度(G'1)の平均値と標準偏差の 3 倍の和を MDL（Minimum detectable TL level）として算出する。ブランク測定は、試験に用いる全ての試薬及び器具を用い、試料測定と同じ条件で実施する。

試験の実施に当たっては、週1回又は20検体に1回程度の頻度で、試験に用いる全ての試薬及び器具を用いて、試料測定と同じ条件でブランク測定を実施し、第一発光量（G'1)がMDLを超えないことを確認する。特に、発光量の大きい試料を測定した後は、ブランク測定を実施して汚染が無いことを確認することが望ましい。また、ブランク測定結果を用いてMDLを定期的に更新し、その信頼性を高めていくことが望ましい。

（４）試験結果の評価に影響を与える装置については、日常的に点検し、その結果を記録する。

熱ルミネセンス(TL)測定装置

メーカーの点検項目及び仕様に従い、常に正常な運転状態を保つこと。

温度の校正は精密な熱電対温度計で加熱板の温度を室温付近で測定し、標準温度計

の示度で校正するなど測定時の温度の絶対値を確認すること。真値からの誤差は50℃付近で5%以内とする。

メーカー推奨の条件でアニーリングしたTLD100(1/8 x 1/8 x 0.035 inch 等)をCo-60ガンマ線で0.5 Gy程度照射し、試料皿に搭載して発光曲線を10回測定し、そのピークⅤの温度の平均をXとする。Xが220～250℃の範囲内にある事を確認する。注2)

注2) Xがこの温度範囲外となった場合は、TL測定装置の温度校正を実施する、試料皿の材質等の確認等を行う。

4．試験方法

4．１　装置

TL測定装置
超音波浴(容量3.3 L程度で出力およそ100 W以上、周波数40 kHzの性能を持つもの)
恒温槽（50±5℃で調節できるもの）
遠心分離器
遠沈管攪拌器
セミ・ミクロ天秤（0.01 mgの桁まで測定可能なもの）除電器の使用が望ましい。
台秤

4．２　試薬・試液など

ポリタングステン酸ナトリウム注3)溶液（比重 2.0）：ポリタングステン酸ナトリウム($Na_6[HW_{12}O_{40}]\ x\ H_2O$) 250 gを水150 mLに溶かす。

6 mol/L塩酸:調製する場合は、塩酸(35～37%) 54 mLを水に加え100 mLにする。

1 mol/L塩酸：調製する場合は、塩酸(35～37%) 8.8 mLを水に加え100 mLにする。

1 mol/Lアンモニア水：調製する場合は、アンモニア水(28%) 6.8 mLを水に加え100 mLにする。

アセトン：試薬特級

水：蒸留水又はイオン交換水

鉱物分離用ナイロンメッシュ：目開き125 µm

試料皿：底面がTL測定装置の加熱板に密着するステンレス製の皿（内径：約6 mm、高さ：約2 mm、底の厚さ：0.193～0.250 mm程度）注4)を基本とする。アセトンに浸漬して超音波浴で洗浄し、密閉容器に保存する。

注3) 風通しの良いところで扱うか、防塵マスク等の防具を着装して扱うことが望ましい。また、廃液は回収することが望ましい。

注4) TL測定装置の仕様に合う試料皿を使用することも可能であるが、3．試験実施のための管理事項（4）aのTLD100の温度が適切な範囲にあることを確認すること。

4．３　試料の調製

（１）抽出法（鉱物の分離）

１）農産物（香辛料、野菜類、果実類及び茶等）

（ｉ）粉末以外の場合

検体[注5)] 約 100ｇ（SLW、ｇ）をビーカーに入れ、検体が十分浸る程度の水を加え、超音波浴内で 15 分間処理後、ナイロンメッシュでろ過し、別のビーカーでろ液を受ける。次いで、ナイロンメッシュ上の残渣を水で洗い、洗液をろ液と合わせる。ナイロンメッシュ上の残渣を廃棄した後、超音波処理を行ったビーカーの器壁に残った付着物を水で流しながら、ナイロンメッシュでろ過し、さらにナイロンメッシュ上の残渣を水でよく洗い、先に得たろ液及び洗液に合わせる。合わせた液を 15 分間静置し、上清を捨て、残った沈殿物を 50 mL の遠沈管に移し、1000 G で 2 分間遠心分離する。上清を捨て、15 mL の遠沈管に沈殿物を移し、さらに 1000 G で 2 分間遠心分離した後、可能な限り上清を捨て、沈殿物を残す。次いで、ポリタングステン酸ナトリウム溶液 5 mL を加え、懸濁させた後、1000 G で 2 分間遠心分離する。遠沈管の器壁に沿って水を静かに加え、界面に浮いた有機物を除去した後、上層の水を除く。上清を捨て、残った沈殿物を粗試料とする。

（ⅱ）粉末状の検体で鉱物量が多い場合は以下の方法を使用できる

検体約 2～5 g（SLW、g）を遠沈管に採り、ポリタングステン酸ナトリウム溶液 15～30 mL を加えて軽く撹拌し、溶液中に均一に懸濁させた後、超音波浴を用いて 5 分間処理する。1000 G で 2 分間遠心分離した後、遠沈管の底からポリタングステン酸ナトリウム溶液約 5 mL とともに沈殿物を吸い取り、15 mL の遠沈管に移す。沈殿物を取り除いた遠沈管にポリタングステン酸ナトリウム溶液 5～10 mL を加えて、浮上物を均一に懸濁させた後、超音波浴内で 5 分間処理する。遠心分離後底から沈殿物を吸い取り、先の 15 mL の遠沈管中の懸濁液に合わせる。この懸濁液を 1000 G で 2 分間遠心分離した後、遠沈管の器壁に沿って水を静かに加え、界面に浮いた有機物を除去した後、上層の水を除く。次いで、上清を除き、沈殿物を残す。

総量およそ 2 mg の沈殿物が得られるまで、（ⅱ）の操作を繰り返し、得られた沈殿物を粗試料とする。

注 5) 検体は原則として有姿のままで操作を行うものとするが、必要に応じ切断等することができる。鉱物の付着量が多いことがわかっている場合は、鉱物を 1 mg 程度分離できる量に検体量を減らすことができる。逆に、試料調製において十分な第二発光を得るための鉱物量が得られなければ、その試料には TL 試験法が適用できない。

２）水産物（あさり、えび及びしゃこ）

検体の状態により、以下に示す 3 方法から選択する。

（ｉ）腸管から鉱物を採取する方法

検体を切り開いて腸を取り出し、付着している組織を切り離す。腸からその内容物を取り出し[注6)]、適量の水を加えて懸濁液とし、ナイロンメッシュを用いてろ過し、遠沈管にろ液を受ける。ナイロンメッシュ上の残渣を水で洗い、洗液をろ液と合わせる。ナイロンメッシュ上の残渣を廃棄し、1000 G で 2 分間遠心分離する。上清を捨て、15 mL の遠沈管に沈殿物を移し、さらに 1000 G で 2 分間遠心分離した後、可能な限り上

清を捨て、沈殿物を残す。次いで、ポリタングステン酸ナトリウム溶液5 mLを加えて懸濁させ、1000 Gで2分間遠心分離する。上清を捨て、残った沈殿物を粗試料とする。

注6）えびの場合、スパーテルで腸を押し潰して内容物を取り出すことができる場合がある。

（ⅱ）検体に付着した鉱物を採取する方法

検体をビーカーに入れ、十分浸る程度の水を加え、超音波浴内で15分間処理する[注7)]。超音波処理後の懸濁液をナイロンメッシュでろ過する。検体に再度十分浸る程度の水を加え、操作を繰り返しろ液を先のろ液に合わせる。上清を捨て、残った沈殿物を50 mLの遠沈管に移し、1000 Gで2分間遠心分離する。以下２）(i）の方法と同様に操作し、得られた沈殿物を粗試料とする。

注7）しゃこでは20尾程度が必要である。

（ⅲ）　塩酸で有機物を加水分解する方法

検体から腸管を採取し、内容物10-80 mg程度を取り出し、6 mol/L塩酸10 mLを加えて撹拌し、5分間超音波により分散させた後、50℃で15～30分間加熱する。腸管の採取が困難な場合には、腸管を含めた組織を試料とし、10～20 g程度に6 mol/L塩酸200 mLを加え、70℃で1時間加熱する。分解中に溶液が対流混合するよう注意し、無色から褐色に変化するのを確かめる。放冷後、倍量の水をゆっくり加え、得られた懸濁液をナイロンメッシュでろ過した後、上清を捨て、残った沈殿物を遠沈管に移し、1000 Gで2分間遠心分離する。以下２）(i）の方法と同様に操作し、得られた沈殿物を粗試料とする。

（２）粗試料の洗浄

粗試料に水数mLを加え、撹拌した後、さらに水を加え10 mLにする。これを1000 Gで2分間遠心分離又は静置した後、上清を除く。この洗浄操作を再度繰り返す。

（３）炭酸塩の除去と洗浄[注8)]

水で洗浄した粗試料に1 mol/L塩酸2 mLを加え、撹拌した後、15～20分間静置する。1 mol/Lアンモニア水約2 mLを加え、撹拌して中和した[注9)]後、水を加えて10 mLにする。1000 Gで2分間遠心分離した後、上清を捨て、沈殿物を残す。水数mLを加え、沈殿物を懸濁し、さらに水を加え10 mLにする。1000 Gで2分間遠心分離した後、上清を捨て、沈殿物を残す。洗浄操作を再度繰り返す。

注8）(ⅲ)塩酸で有機物を加水分解する方法を選択した場合は、この操作を省くことができる。

注9）pH試験紙を用いて中性であることを確認する

（４）水分の除去

（３）により得られた沈殿物をアセトン3～5 mLに懸濁[注10)]し、1000Gで2分間遠

心分離した後、上清を除く。再度アセトン 3〜5 mL を加え、この操作を繰り返す[注11)]。アセトン洗浄した沈殿物を埃が入らない容器に入れ、アセトン臭が無くなるまで、風乾燥し試料とする。

注 10）アセトン懸濁液が白濁した場合は、ポリタングステン酸ナトリウムが除去されていないので、水による洗浄を数回行ってからアセトンによる水分の除去の操作を行う。

注 11）鉱物に色素が付着している場合は、アセトン溶液の着色がなくなるまで､アセトンを用いた（４）の操作を繰り返す。

４．４　アニーリング[注12)]

試料を遠沈管に入れ 50℃に保った恒温槽に入れ連続して 16 時間加熱した後、試料の重量（EW、mg）を測定する。アニーリング後の試料は、遮光した容器に入れて保存する。

注 12）温度は精密に制御されていることが望ましい。また、過剰なアニーリングは発光強度を極端に弱め、不十分なアニーリングは TL 比が一定になりにくい。

４．５　測定試料皿への鉱物の搭載

アニーリング後の試料に 0.2〜0.5 mL のアセトンを加えて懸濁し、必要に応じて 1000 G で 2 分間遠心分離した後、パスツールピペット(または 25〜50 µL 分取できるマイクロピペット[注13)])で、遠沈管の底のわずか上から沈殿した鉱物を吸い上げ、その鉱物がピペットの先端に沈下し集まるのを待って、あらかじめ重量（DW、mg）を測定した試料皿に 1〜2 滴落とす。鉱物量が少ないようであれば、再度沈殿した鉱物を吸い上げ、滴下を行う。

アセトンを揮発させた後[注14)]、鉱物を載せた試料皿の重量（G’1W、mg）を測定し、分析試料とする。

注 13）マイクロピペットを使用する場合は、容量の大きいチップ（250 µL）を使用する。

注 14）鉱物の損失・移動を防ぐために、シリコーン溶液により固定しても良い。また、シリコーン溶液により鉱物を固定した場合は、鉱物を試料皿に搭載した後に 4.4 アニーリングを実施しても良い。シリコーンには加熱による重量変化が少なく、かつ発光量及び発光極大温度に影響を与えない製品を用いる(信越化学工業株式会社製の KM-740T 等)。

４．６　第一発光測定

TL 測定装置を用いて､以下の測定条件で試料からの発光量を測定し､この発光量を Glow 1（G’1、nC）とする。この発光曲線上に発光量が増加した後に減少する明確な発光極大が認められる場合にはその温度（T1、℃）を記録する。さらに、加熱板の温度が 50℃以下になってから、直ちに発光を再度測定し、この発光量 B1(nC) をバックグランドとする。TL 測定後、試料を載せた試料皿の重量を測定する（B1W、mg)。

【測定条件】

試料室雰囲気：窒素ガス（G3 以上）

窒素ガス流量：メーカー推奨条件
昇温：開始温度 70℃、終了温度 400℃以上
積分温度区間：150℃～250℃
昇温速度：6℃/秒

４．７　標準線量の照射

試料を鉱物が飛散しない容器に梱包して、所定の標準線量を照射できる機関に 15℃以下で送付する。当該機関において、試料に放射線（吸収線量：Co-60 ガンマ線 1.0 kGy 相当[注15) 16)]）を照射する。当該機関からの返送も 15℃以下で行い、標準線量が照射された試料を受領した後、試料を載せた試料皿の重量（G'2W、mg）を測定する。

注 15）目標線量 1.0 kGy に対して 5％以内の範囲であること。照射ロットごとに吸収線量を測定し、記録する。

注 16）４．６第一発光測定において、第一発光量が MDL の 3 倍未満である、または第一発光曲線上に発光量が増加した後に減少する明確な発光極大が認められない場合には、標準照射を Co-60 ガンマ線 1.0 kGy 相当の X 線で代替できる。Co-60 ガンマ線 1.0 kGy 相当の X 線照射条件の決定方法は別添に示す。

４．８　標準線量照射後のアニーリング

標準線量を照射した後、遮光して 50℃に保った恒温槽に入れ、連続して 16 時間加熱する。アニーリングは、放射線照射後可及的に速やかに行うこととし、検査機関ごとに放射線照射からアニーリングまでの時間を一定にすることが望ましい。

４．９　第二発光測定

TL 測定装置を用いて、第一発光の測定と同じ条件で、標準線量を照射した試料の発光量を測定し、この発光量を Glow２（G'2、nC）とする。発光曲線上に発光量が増加した後に減少する明確な極大が認められる場合には、その温度（T2、℃）を記録する。さらに、加熱板の温度が 50℃以下になってから、直ちに発光を再度測定し、この発光量 B2（nC）をバックグランドとする。TL 測定後、試料を載せた試料皿の重量を測定する（B2W、mg）。第二発光の測定は標準線量照射後１週間以内を目途に実行する。

４．１０　TL 発光比の計算

次の式により、TL 発光比を計算する。

TL 発光比＝G1/G2
ただし、G1＝G'１－B1　(nC)
G2＝G'２－B2　(nC)

５．判定

１つの検体から２つ以上の試料を用いて測定を行い、１つ以上の試料において以下の判定項目の両方を満たす場合、放射線照射されたと判定する。ただし、(1)を満たし(2)を満

たさない場合は、試料の一部に放射線照射がされている可能性があると判定する。これ以外の場合は、放射線照射されているものと確定できない。

(1) 第一発光量が MDL の 3 倍以上であり、第一発光曲線上に発光量が増加した後に減少する明確な発光極大が認められ、その発光極大温度（T1）が 250℃以下である。
(2) TL 発光比が 0.1 を超える。

以下の項目に相当する場合は、放射線照射の有無を判定できない。
(1) 第二発光量が MDL の 10 倍以下である。
(2) TL 発光比が 0.1 付近であるが、第一発光の測定後と第二発光の測定後の試料重量が大幅に変動している。[注17)]

注 17) 例えば、B1W と B2W の差の絶対値が 0.1 mg を超える場合。このような場合では、試料調製から再試験を実施することも検討する。

Ⅲ　電子スピン共鳴(ESR)法

１．対象食品

放射線照射（以下、照射）によりラジカルを生成する食品

貝殻及び結晶性の糖を含む食品[注1)]

注1）貝殻付の貝（ハマグリ及びアサリ）、糖結晶を含む乾燥果実（マンゴー、パイナップル、パパイヤ）について本試験法の適用が確認できている。

２．分析対象

照射により生成したラジカル

３．試験実施のための管理事項

３．１　ESR装置

ESR 装置は以下の条件を満たした装置を用いる。

① 周波数 X バンド（約9 GHz）のマイクロ波の発振が可能なこと。

② 周波数 X バンド内で共振条件を満たすこと。

③ 掃引幅15 mT 以上であること。

④ 変調強度 0.1- 1 mT の中のいずれかの値を設定できること。

⑤ 変調周波数 50 - 100 kHz の中のいずれかの値を設定できること。

⑥ マイクロ波パワー0.1 - 10 mWの中で本測定に必要な値を設定できること。

⑦ データポイントの数、積算回数、時定数、ゲイン調節などを信号強度に応じて調節可能であること。

⑧ マンガンを用いてg 値[注2)]を決定するため、校正された有効数字5 桁以上の周波数カウンターを装備しているか、シンセサイザー方式の発振器を用いるなどして正確な発振周波数を5 桁以上読み取れること。

注2）g値は次のように定義する。

g値　＝（71.448×測定時マイクロ波周波数［GHz]）／（試料の共鳴磁場［mT]）

３．２　ESR装置の準備と作動条件の確認

３．２．１．ESR 装置の準備

使用するESR装置の取扱説明書に従い適切な順序で装置の起動、測定準備を行う（測定条件の設定、変調校正ファイルの読み込み、装置のウォーミングアップ、マンガン参照信号の設定等)。

３．２．２　チューニング操作

再現性を保つため、ESR 装置は試験前に毎回チューニングする。

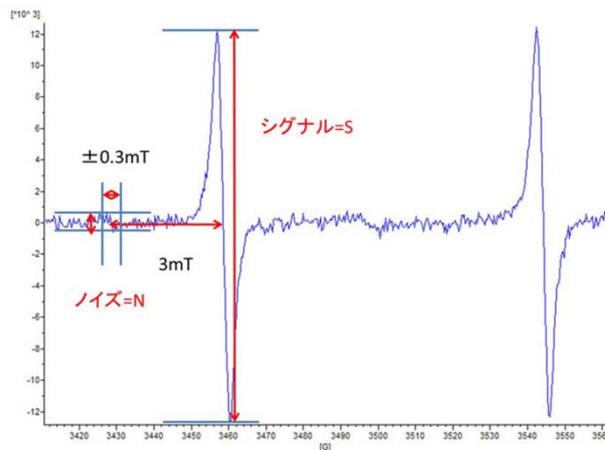
３．２．３　ESR装置の感度のチェック

ESR装置の感度を確認するために、30～100 Gyを照射したアラニン素子とマンガンを同時に測定する[注3)]。低磁場側から数えて3本目のマンガンピーク（M3と定義）のアラニン

30 Gy 吸収線量に相当する信号強度のS/N 比注4)が 5 以上であることを定期的に確認する。測定条件は 5. ESR 測定条件を参考にする。

注 3) マンガンの導入量はアラニン素子 30～100 Gy の信号と同程度のシグナルが得られるように調整する。マンガンピークの強度が弱いと、g 値を算出する際に誤差が大きくなるので注意する。

注 4) S/N の算出について

S（シグナル）は M3 を対象とし、その最大と最小の強度差とする。N（ノイズ）は上記のシグナルから低磁場側に 3 mT を中心に 0.3 mT の範囲を対象とし、その最大と最小の強度差とする。

S/N 算出のための参考図

３．２．４　マンガン信号強度の調整とアラニン吸収線量換算値

試料と同時に測定するマンガンは３．２．３で調整した量とする。M3 のアラニン素子（30～100 Gy 吸収線量）に対する信号強度比より、M3 のアラニン吸収線量換算値を求める。

３．２．５　試料の挿入とチューニング

分析試料を挿入し、ESR 装置をチューニングする。

３．３　ESR 試験法の導入時の評価

試験の対象とする食品について、未照射の陰性試料及びガンマ線照射した陽性試料注5)を、ESR 試験法により測定し、６.判定に従って結果を判定する。陰性 5 試料の結果全てが照射されているものと確定できず、陽性 5 試料の結果全てが照射されたと判定されるとき、ESR 試験法の導入が可能である。

注 5)陽性試料の吸収線量は試験の対象とする食品において、殺菌目的とされる線量の最低線量付近とする(例えば貝は 1 kGy、乾燥果実は 4 kGy 程度)。貝及び乾燥果実について、種類、産地、及び販売元等の異なる 5 試料について陰性及び陽性試料を作製し評価することが望ましい。

４．試験方法

４．１　器具・試薬

粉砕器

非金属製（ジルコニア等）の粉砕容器及び粉砕ボールを使用して試料の粉砕が可能であること。なお、メノウ乳鉢で代用することも可能である。

真空乾燥機

槽内を真空状態[注6)]に保ち、40℃に温度設定が可能であること。

注6）20 Pa 程度に減圧が可能であるもの。

ESR 試料管

内径約 4 mm、外径約 5 mm の石英製[注7)]

注7）ロット毎にバックグラウンド信号が観察されないことを確認することが望ましい。

アラニン素子[注8)]

α－アラニン（CH_3-CH(NH_2)-COOH）の多結晶状態の粉末をバインダーで固めたアラニンペレット素子（直径約 5 mm、厚さ約 3 mm、重さ約 65 mg）。ホルダーはメーカーの推奨する専用のホルダーを用いる。

注8）アラニン素子は Gamma Service Produktbestrahlung 社等から市販されている。照射したアラニン素子の保管に際しては、高温、多湿を避けること。減衰率は 1 年で 1%程度である。

マンガン

Mn^{2+}を含む粉末の化合物(MgO あるいは CaO)で 6 本の ESR 信号が観測されるものを用いる。M3 及び低磁場から数えて 4 本目（M4 と定義）をマンガンの参照信号として用いる[注9)]。

注9）マンガン参照信号は ESR 装置に設置する場所によって、試料の ESR 信号と逆位相で検出されることもある。

４．２　試料の調製

４．２．１　貝殻を含む食品

貝殻から肉・組織を可能な限り取り除き、水洗後、ペーパータオル等で水分を拭き取り風乾する。次いで、ハンマー等で細かく粉砕し、適量を粉砕容器に粉砕ボールと共に入れ、粉砕器により粉砕する[注10)]。粉砕した試料を真空乾燥機により真空下、40℃で 3 時間乾燥させ、その約 150 mg を ESR 試料管に充填し測定試料とする[注11)]。粉砕条件の例を下記に示す。

（貝殻の粉砕条件の例）

粉砕器：レッチェ　ミルサーミル MM400

粉砕容器：MM400 用ネジ式粉砕ジャージルコニア 35 mL

粉砕ボール：粉砕ボールジルコニア 直径 20 mm

粉砕条件：28 回/秒、30 秒間（ハンマーで粉砕した貝殻 2～4 g 程度を使用）

注10）目開き約 250 μm のふるいを通過できる程度に粉砕する。試料の粉砕が不十分であると、ESR スペクトルに異方性が認められ、照射の判定が不能になる場合がある。

注11）ESR 測定では水分の影響を受けやすいので、試料は十分に乾燥させる必要がある。試料を保存する際も吸湿に注意を払う。

４．２．２　糖結晶を含む食品

乾燥果実類は、糖結晶が多く含まれている表面部分をメスやカミソリの刃等で切り取る（長

さ 10～20 mm、断面が 1～2 mm 程度）[注12)]。切り取った試料は真空乾燥機により真空下、40℃で 3 時間乾燥させる。乾燥後の試料 50～100 mg を ESR 試料管に充填する[注13)]。

注 12）測定試料に含まれる糖の量により ESR スペクトルの信号強度が大きく変化する。測定試料は乾燥果実の表面に付着している糖結晶をできるだけ含むように、乾燥果実の表面をそぎ取るように行う。

注 13）糖結晶が融解し ESR 試料管の上部に付着した場合、ラジカルの検出が困難になる。乾燥後の測定試料はテフロンテープ等に包み ESR 試料管に充填すると良い。

５．ESR 測定条件

ESR 試験法の導入時の評価の際に選択した測定条件とする。使用する機器により測定条件は異なるので適宜変更すること。測定条件の例を以下に示す。

アラニン素子

仕　様	e-scan	JES-FA100
中心磁場	3490 G	336 mT
掃引幅	150 G	±7.5 mT
変調強度	4 G	0.4 mT
変調周波数	86 kHz	100 kHz
マイクロ波パワー	1 mW	1 mW
データポイント	512	65535
時定数	10.24 ms	10 ms
ゲイン	1×10^3	3×10
掃引時間	5.2 s	10 s
積算回数	24	10

貝殻を含む食品

仕　様	e-scan	JES-FA100
中心磁場	3490 G	336 mT
掃引幅	100 G	±5 mT
変調強度	1 G	0.1 mT
変調周波数	86 kHz	100 kHz
マイクロ波パワー	0.4 mW	0.4 mW
データポイント	512	65535
時定数	10.24 ms	100 ms
ゲイン	1×10^3	2×10
掃引時間	5.2 s	120 s
積算回数	24	1

結晶性の糖を含む食品

仕　様	e-scan	JES-FA100
中心磁場	3500 G	336 mT
掃引幅	100G	±7.5 mT
変調強度	4 G	0.4 mT
変調周波数	86 kHz	100 kHz
マイクロ波パワー	5 mW	5 mW
データポイント	512	65535
時定数	40.96 ms	100 ms
ゲイン	1×10^3	3×10
掃引時間	5.2 s	120 s
積算回数	24	1

６．判定

下記に示す方法により規定値以上の信号強度比が得られ、かつESR スペクトルが同定できれば、照射されたと判定する。これ以外の場合は、照射されているものと確定できない。

６．１　貝殻を含む食品[注14)]

６．１．１　信号強度比の判定

図１(a) に示す形状のESR スペクトル（主として炭酸ラジカル由来）が得られた時、メインピークの信号強度（矢印で示した最大と最小の強度差）をM3 の信号強度（アラニン30 Gy 吸収線量換算値）で除した値が１以上であること。信号強度比の算出は下記の式により行う。

信号強度比＝
　　メインピークの信号強度 / M3 の信号強度 × M3 のアラニン吸収線量換算値Gy / 30 Gy

６．１．２　スペクトルの同定

図１(a) に示す形状のESR スペクトルが得られ、観測される３つのピークのg 値（g1,g2 及びg3）がそれぞれ規定の範囲内であること。g1 はメインピークの最大、最小値の磁場の中心、g2 はメインピークより高磁場側に観測されるピーク信号の最小値、g3 はメインピークより低磁場側に観測されるピーク信号の最大値とする。g1、g2、及びg3 の全てが下記の範囲にある時、目的のスペクトルが同定されたと判定する。

（スペクトルが同定されたと判定するg 値の範囲）

g1 = 2.0006～2.0016

g2 = 1.9968～1.9978

g3 = 2.0027～2.0037

また、未照射試料のESR スペクトルでは強度の弱い対称性のあるピークが観察される場合がある（図１(b)）。

注 14）貝殻付のハマグリ及びアサリは、冷凍保存の場合、照射後 6 ヶ月間は判定に支障が無いことが確認されている。

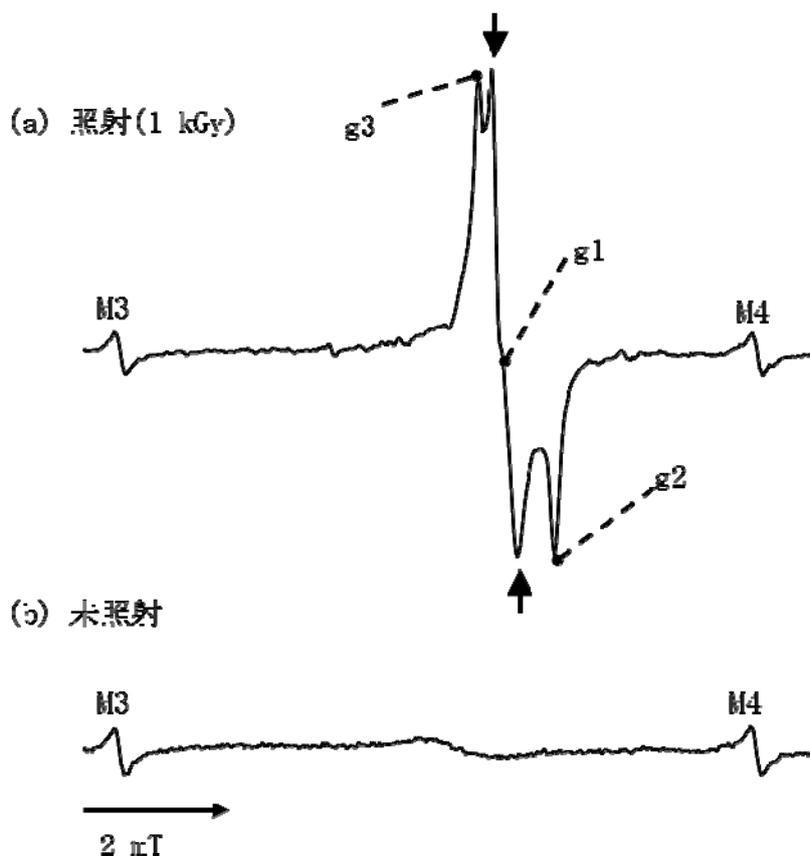



図１　貝殻付きハマグリの ESR スペクトルの例

６．２　結晶性の糖を含む食品[注 15)]

６．２．１　信号強度比の判定

図 2（a）に示す形状の ESR スペクトル（主として糖ラジカル由来）が得られた時、メインピークの信号強度（矢印で示した最大と最小の強度差）を M3 の信号強度（アラニン 30 Gy 吸収線量換算値）で除した値が 1 以上であること。信号強度比の算出は下記の式により行う。

信号強度比

＝メインピークの信号強度 / M3 の信号強度 × M3 のアラニン吸収線量換算値 Gy / 30 Gy

６．２．２　スペクトルの同定

図 2（a）に示す形状の ESR スペクトルが得られ、観測される最大ピークと最小ピークの磁場の中心である g 値（gc)、及び最大ピークと最小ピーク間の線幅（ΔHpp）が規定の範囲内であること。gc 及びΔHpp が下記の範囲にある時、目的のスペクトルが同定されたとする。

（スペクトルが同定されたと判定する gc 及びΔHpp の範囲）

gc ＝ 2.0041～2.0051

ΔHpp = 2.4～3.0 mT

また、未照射試料の ESR スペクトルではピークは認められない場合が多い。

注 15）本試験法の適用性は、測定試料に含まれる結晶性の糖の量に影響される。照射されているものと確定できないと判定された測定試料に、本試験法で検知できる十分な結晶性の糖が含まれていなかった疑いがある場合、サンプリングから再試験を実施することが望ましい。結晶性の糖を含む乾燥マンゴー、パイナップル、及びパパイヤは、室温保存の場合、照射後 6 ヶ月間は判定に支障が無いことが確認されている。

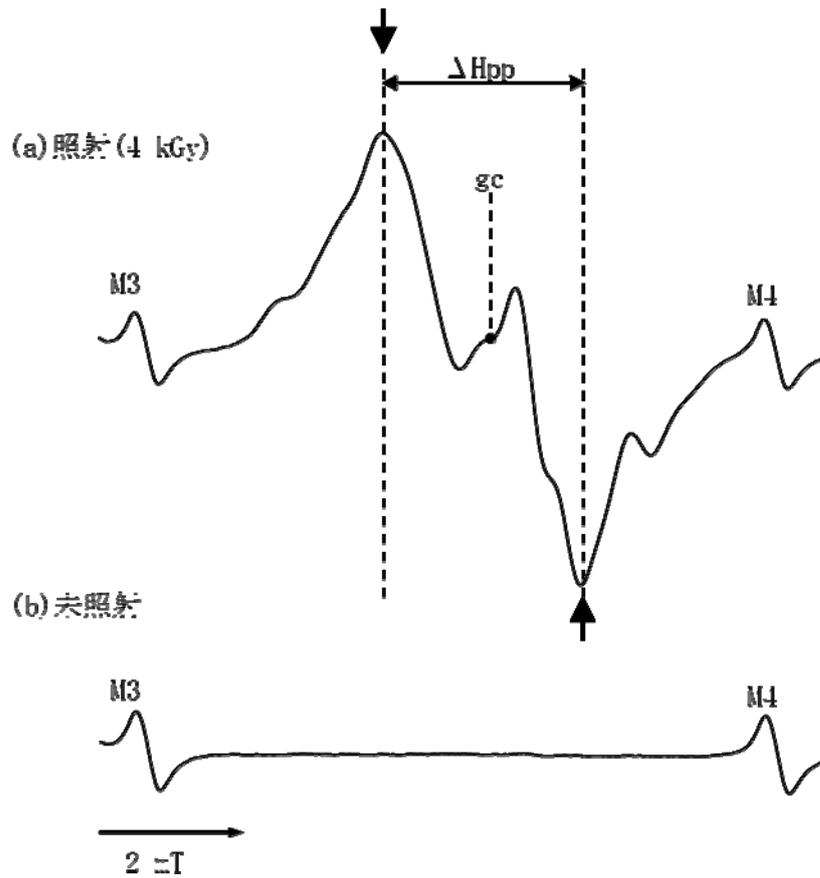



図２　結晶性の糖を含む乾燥マンゴーの ESR スペクトルの例

別添

熱ルミネッセンス法における標準照射のX線による代替について

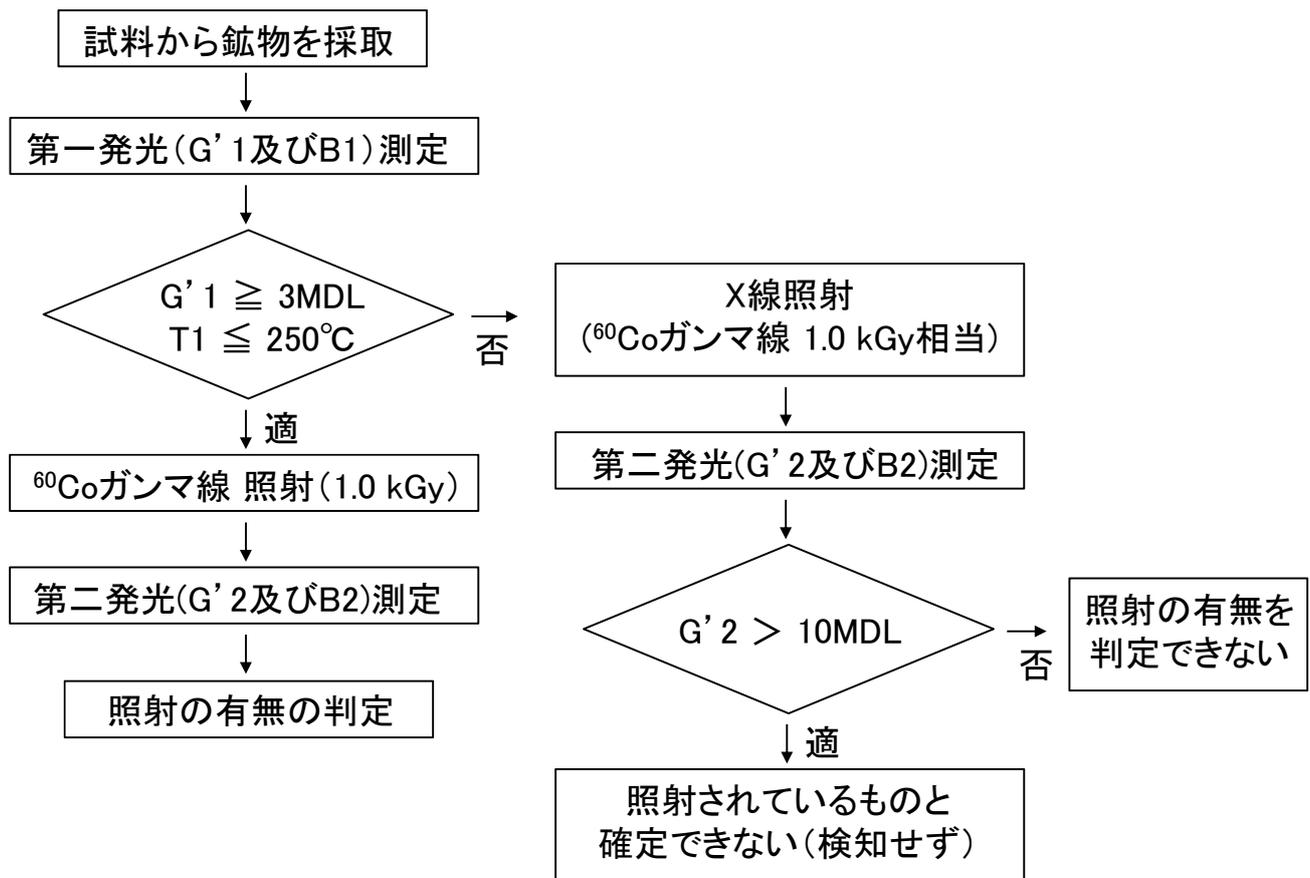
現在、放射線照射された食品の検知法が通知され、そのⅡ．熱ルミネッセンス(TL)試験法においては、発光量測定後の鉱物試料に対し標準照射(Co-60ガンマ線線1.0 kGy相当)を行って再度発光量を測定し、初期発光量の標準照射後の発光量に対する比(TL発光比)により規格化することで、照射の有無を判別することとされている。しかし、標準照射が実施可能な分析機関は限られており、測定試料を分析機関から標準照射が可能な照射施設に輸送し標準照射を実施するには時間を要するため、判定結果が得られるまでの日数の増加を招いている。

標準照射線源としてCo-60ガンマ線の代わりにX線を使用する可能性について検討した結果、別紙に示すような方法で、Co-60ガンマ線1 kGyに相当するX線照射時間を決定した場合には、X線による標準照射が可能であることが明らかとなった。ただし、Co-60ガンマ線およびX線による発光量は全ての試料で同等とはならないことから、TL法による照射食品の試験においては、５．判定中、判定基準の

(1) 第一発光量がMDLの3倍以上であり、第一発光曲線上に発光量が増加した後に減少する明確な発光極大が認められ、その発光極大温度(T1)が250℃以下である

が満たされない場合に、標準照射をX線で代替できることとした。この場合、X線装置を用いて標準線量を照射し、MDLの10倍を超える第二発光が得られれば、「放射線照射されているものと確定できない(検知せず)」と判断できる。第二発光がMDLの10倍以下であるときは、放射線照射の有無を判定できないとする。

X線による標準照射を行う場合の判定のフロー及び標準照射をX線で代替する場合の照射条件の決定法を以下に示す。

１．Ｘ線による標準照射を行う場合の判定のフロー

２．標準照射をＸ線で代替する場合の照射条件の決定法

バレイショ[1)]からⅡ．熱ルミネッセンス（TL）試験法の４．３　試料の調製・（１）抽出法（鉱物の分離）・１）農産物（香辛料、野菜類、果実類及び茶等）・（ｉ）粉末以外の場合、に従って鉱物を採取し、アセトンに懸濁し、約 1 mg を試料皿に滴下し、アセトンを揮発させる。シリコーン溶液を約 5 μL を滴下し、50℃で 2 時間乾燥させた後、TL 装置で 490℃まで加熱する。Co-60 ガンマ線 1.0 kGy を照射した後、TL 測定し発光量(TL_{γ}を)求める。次いで、照射時間を変えてＸ線を照射し、TL 測定し発光量(TL_{X}を)求める。照射時間に対するTL_{X}の回帰式を求め、$TL_{X}＝TL_{\gamma}$となる照射時間を計算する。

注

1)　士幌町農業協同組合から購入したバレイショから採取した鉱物で決定した照射時間は、パプリカ、ターメリック、マジョラムおよびセロリーシードから採取した鉱物において Co-60 ガンマ線 1 kGy と同程度の発光量を与えた。